

Proteinasen und ihre Inhibitoren

Pathophysiologische Aspekte beim Schock

Herausgegeben von
G. Schnells, Bad Lauterberg

Ausgewählte Beiträge der Symposien
in der Akademie der Wissenschaften
und der Literatur zu Mainz

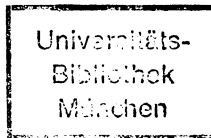


perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft mbH
D-8520 Erlangen

730968+9 E

Anschrift des Herausgebers:

Dr. med. G. Schnells
Sanatorium Mühl
Ritscherstr. 1—3
3422 Bad Lauterberg



CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek

90

Proteinasen und ihre Inhibitoren

pathophysiolog. Aspekte beim Schock
ausgew. Beitr. d. Symposien in d. Akad. d. Wiss. zu Mainz
hrsg. von G. Schnells.
Erlangen : perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft, 1983.

ISBN 3-921222-84-2

NE: Schnells, Günther [Hrsg.]; Akademie der Wissenschaften und der Literatur «Mainz»

ISBN: 3-921222-84-2

Copyright 1983 by perimed Fachbuch-Verlagsgesellschaft mbH, Vogelherd 35, D-8520 Erlangen
Printed in Germany

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf fotomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwendung, vorbehalten. Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Satz und Druck: Druckhaus Nürnberg

Herausgeber und Verlag danken dem Archiv der Stadt Mainz für die Genehmigung zum Abdruck des Titelbildes.

Inhalt

Vorwort	7	Allgemeine Pathophysiologie des Schocks und spezielle Pathologie der Schockorgane Leber, Magen, Darm und Pankreas	
Morphologische Grundlagen früher Schockphasen		H. Flenker	61
H. Heine	9	Mikrobiologie und Klinik beim septischen Schock	
Die geformten Blutbestandteile im septischen Schock als Beispiel des Membranverhaltens im Schock		M. Alexander	75
G. Schnells	25	Schockinduziertes Atemnotsyndrom (Pathologie und Pathogenese der Schocklunge)	
Gerinnungsstörungen im Schock		U. N. Riede, N. Freudenberg, B. Fringes, C. Mittermayer, in Zusammenarbeit mit U. Costabel, M. A. Freudenberg, H. Friedburg, C. Galanos, J. Hassenstein, M. Hirschauer, J. H. Schäfer, W. Vogel	89
S. Haas, H. Vinazzer, G. Blümel	43	Autoren	107
Elastase- α_1 -Proteinaseinhibitor-Komplex (E- α_1 PI): ein Indikator für pathobiochemische Veränderungen bei entzündlichen Prozessen			
M. Jochum, K.-H. Duswald, J. Witte, H. Fritz	49		

Elastase- α_1 -Proteinaseinhibitor-Komplex (E- α_1 PI): ein Indikator für pathobiochemische Veränderungen bei entzündlichen Prozessen

M. Jochum, K.-H. Duswald, J. Witte, H. Fritz

Zu den wichtigsten pathophysiologischen Geschehen vieler entzündlicher Prozesse zählen die Zerstörung von Gewebestrukturen und Zellmembranen und die dadurch bedingte Freisetzung zellständiger, meist lysosomaler Enzyme. Besonders reich an solchen Enzymen sind Endothelzellen, Fibroblasten, Makrophagen und Mastzellen sowie basophile und polymorphkernige (PMN-)Granulozyten (Abb. 1).

Eine große pathobiochemische Bedeutung kommt den „neutralen“ Proteinasen (Elastase, Kathepsin G, Kollagenase etc., Tab. 1) aus den Granula der PMN-Leukozyten sowohl wegen ihrer hohen Konzentration innerhalb der Zellen als auch aufgrund ihres Wirkungsoptimums im physiologischen pH-Bereich zu (Havemann und Janoff, 1978).

Die biologische Funktion dieser Enzyme ist in erster Linie im Abbau und in der Verstoffwechselung von phagozytiertem Material in den Zellen zu suchen. Außerhalb der Phagozyten finden sie sowohl im Blutplasma als auch in mukösen Sekreten oder anderen Körperflüssigkeiten ihre natürlichen Antagonisten in den Proteinaseinhibitoren α_1 -Proteinaseinhibitor (= α_1 -Antitrypsin), α_2 -Makroglobulin, α_1 -Antichymotrypsin und Antileukoprotease (Fritz, 1980).

Kommt es nun im Verlauf von pathologischen Prozessen im Organismus (Entzündung, Gewebeertrümmerung etc.) zur Degranulation und somit zur Freisetzung der lysosomalen Enzyme zusätzlich zur Liberierung von anderen Proteinasen (z. B. Thrombokinase und Plasminogenaktivator aus Thrombozyten, Endothel-

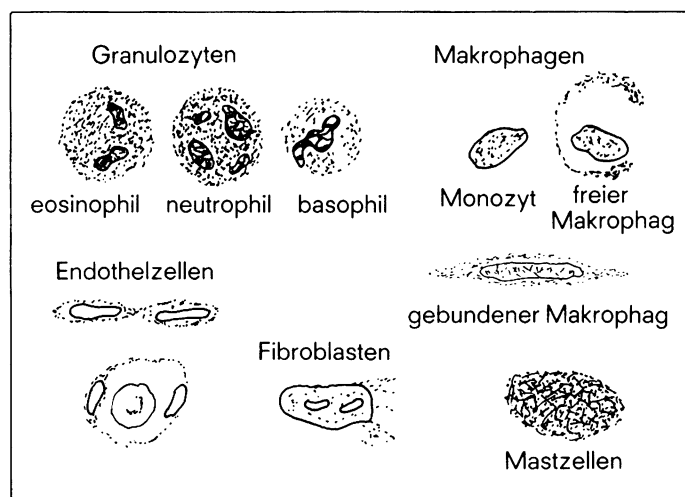


Abb. 1 Körperzellen mit einer reichhaltigen lysosomalen Enzymausstattung.

Enzym	Konzentration ($\mu\text{g}/10^6$ Zellen)	Biologische Substrate
Elastase	2,73	Proteoglykane, Elastin, Kollagen III Immunglobuline Gerinnungs-, Fibrinolyse-, Komplementfaktoren Transportproteine
Kathepsin G	1,20	Proteoglykane, Kollagen Gerinnungs-, Fibrinolyse-, Komplementfaktoren
Kollagenase	0,065	Kollagen I (III)

Tab. 1 Neutrale Proteinase aus menschlichen Granulozyten.

zellen u. a.) in das umgebende Milieu, so können die proteolytisch wirksamen Faktoren den Pathomechanismus auf zwei Arten verstärken (Tab. 2):

— Systemspezifische Proteinase wie die Thrombokinas und der Plasminogenaktivator bewirken die Aktivierung der „Blutsysteme“ (Gerinnung, Fibrinolyse, Komplement, Kallikrein-Kinin-System) und damit die Umwandlung von Proenzymen in Enzyme durch limitierte, substratspezifische Proteolyse. Durch die folgende Hemmung und Eliminierung der aktiven Enzyme werden nicht nur diese selbst, sondern auch ihre Inhibitoren, so z. B. Antithrombin III (AT III, Gerinnung), α_2 -Antiplasmin (α_2 AP, Fibrinolyse) und C1-Inaktivator (C1-INA, Komplement, Kallikrein-Kinin-System), verbraucht.

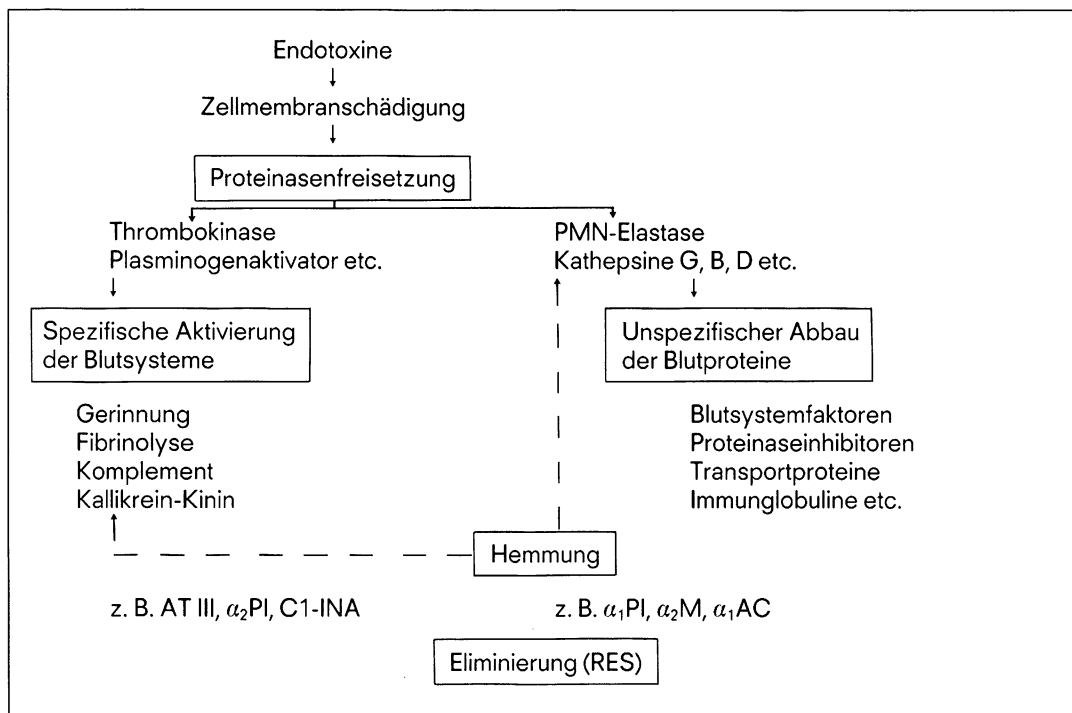
— Systemunspezifische Proteinase wie Elastase und Kathepsin G inaktivieren in vitro durch substratunspezifische Proteolyse eine Vielzahl von Plasmaproteinen (Tab. 1, Blutsystemfaktoren, Transportproteine, Immunglobuline etc.). Nach massiver Freisetzung in vivo scheint die-

se proteolytische Aktivität — wohl aufgrund einer lokal nicht mehr ausreichenden Inhibitorkonzentration — beträchtlich zum Verbrauch von Plasmafaktoren beizutragen. Klinisch relevante Beispiele sind die gramnegative Sepsis, die akute myeloische Leukämie, Polyarthritis, obstruktives Lungenemphysem usw. (*Egbring et al.*, 1977; *Jochum et al.*, 1982a; *Wong und Travis*, 1980; *Martin und Taylor*, 1979).

Zahlreiche Untersuchungen aus unserem Arbeitskreis, die im folgenden dargestellt werden sollen, konnten insbesondere in den letzten beiden Jahren diese inzwischen allgemein anerkannte Vorstellung über die Wirkung leukozyitärer Proteinase unter pathophysiologischen Bedingungen bestätigen.

Untersuchungen zur Wirkung lysosomaler Enzyme auf biologische Substrate

Im Rahmen einer umfassenden klinischen Studie zur Pathobiochemie von



Tab. 2 Pathobiochemische Reaktionen bei gramnegativer Sepsis. PMN: polymorphkernige Granulozyten, ATIII: Antithrombin III, α_2 PI: Alpha-2-Plasmininhibitor, C1-INa: C1-Inaktivator, α_1 PI: Alpha-1-Proteinaseinhibitor, α_2 M: Alpha-2-Makroglobulin, α_1 AC: Alpha-1-Antichymotrypsin.

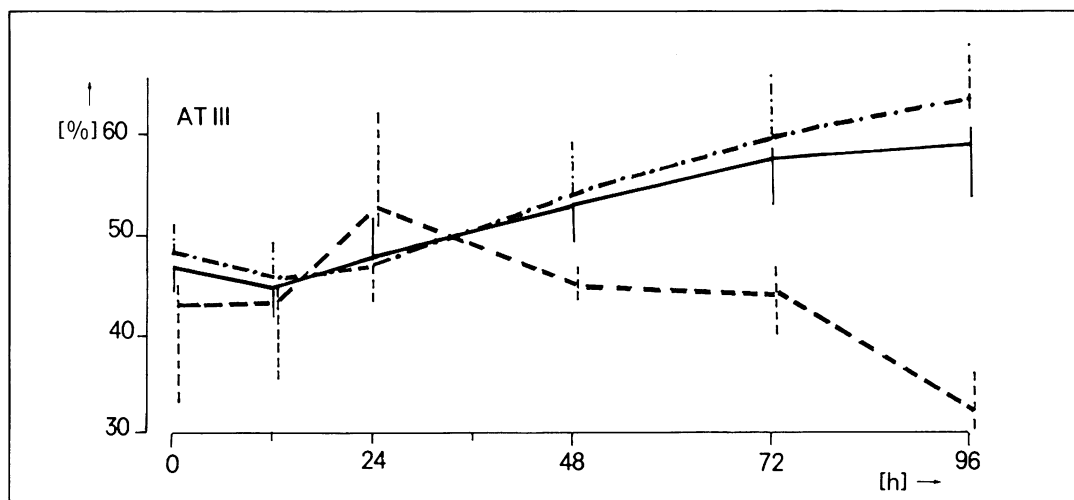


Abb. 2 Plasmagehalt von Antithrombin III während des hyperdynamen septischen Schocks. Die Kurven zeigen Mittelwerte (\pm SEM) aller untersuchten Patienten ($n = 18$; —), von Patienten, die die Schockphase überlebten ($n = 15$; - · -), und von Patienten, die während der Beobachtungsphase verstarben ($n = 3$; ---).

Plasmaproteinen beim hyperdynamen septischen Schock des Menschen (Witte et al., 1982) konnten wir zeigen, daß von den zahlreichen untersuchten Plasmafaktoren insbesondere der wichtigste Hemmstoff der Gerinnung, das Antithrombin III (AT III), schon zu Beginn der Schockphase sehr stark erniedrigt war. Bei Patienten, die die Schockphase überlebten, stieg der AT-III-Spiegel allmählich wieder an, während er weiterhin dramatisch abfiel bei den Personen, die während der Schockphase verstarben (Abb. 2).

Deshalb haben wir in in-vitro-Untersuchungen überprüft, ob auch Plasmainhibitoren der proteolytischen Wirkung von Leukozytenproteasen unterliegen. Dazu wurden die Inhibitoren Antithrombin III, α_2 -Plasmininhibitor und α_1 -Antichymotrypsin mit aus menschlichen Granulozyten isolierter Elastase inkubiert. Keiner der Hemmstoffe zeigte inhibitorische Aktivität gegenüber Elastase, hingegen genügten z. T. bereits katalytische Mengen dieses Enzyms, um die Hemmaktivität von AT III gegenüber Thrombin (Abb. 3), von α_2 -Plasmininhibitor gegenüber Plasmin und von α_1 -Antichymotrypsin gegenüber Chymotrypsin bzw. Katherpsin G drastisch zu reduzieren (Tab. 3; Jochum et al., 1981a; Jochum und Lander, 1982b).

Der α_1 -Proteinaseinhibitor (α_1 -Antitrypsin) wird in ähnlicher Weise durch Makrophagenelastase (Metalloproteinase) proteolytisch inaktiviert (Banda et al., 1980). Darüber hinaus kann aus phagozytierenden Granulozyten freigesetzte Myeloperoxidase den Methioninrest im reaktiven Zentrum dieses Hemmstoffes oxidieren (Tab. 3).

Hierdurch wird die normalerweise extrem rasche und irreversible Inhibition der granulozytären Elastase durch den

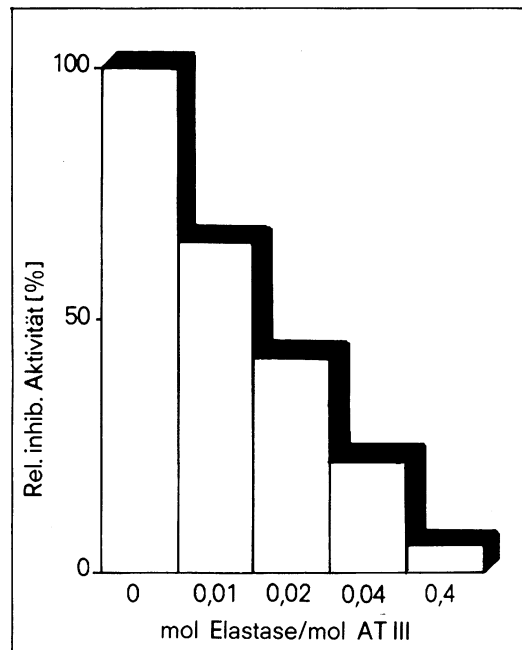


Abb. 3 Inaktivierung von isoliertem Antithrombin III durch isolierte Granulozytenelastase.

α_1 -Proteinaseinhibitor so erheblich verzögert, daß ein unspezifischer Abbau von Plasmaproteinen trotz hoher endogener Hemmstoffkonzentration auch in vivo möglich erscheint (Tab. 4; Beatty et al., 1980).

Studien von Dietl et al. (1979) zeigten, daß die granulozytäre Elastase in vitro auch in der Lage ist, aus einem säurelabilen Trypsininhibitor des Plasmas, dem Inter- α -Trypsininhibitor (ITI_{160 000}), rasch ein säurestabiles Inhibitormolekül (ITI_{30 000}) abzuspalten. Da bei den Patienten im septischen Schock (Witte et al., 1982) der Gehalt an nativem ITI_{160 000} im Serum signifikant reduziert und die Konzentration von ITI_{30 000} beträchtlich erhöht war, darf man wohl eine permanente Freisetzung granulozytärer Proteinasen während des septischen Schocks postulieren (Abb. 4).

Abbau bzw. Inaktivierung		durch
α_1 PI	α_1 -Proteinaseinhibitor	O ₂ ^{•-} & HO [•] & H ₂ O ₂ [*] ; Myeloperoxidase Metalloproteasen Thiolproteasen Leukozytenelastase
AT III	Antithrombin III	
α_2 PI	α_2 -Plasmininhibitor	
C1-INa	C1-Inaktivator	
* Phagozytose (Hexosemonophosphat Shunt)-Produkte		

Tab. 3 Abbau bzw. Inaktivierung von Plasmainhibitoren durch lysosomale Enzyme.

α_1 PI _{nativ} (Met) und α_1 PI _{oxid} (Met-Sulfoxid)		
Komplex mit PMN-Elastase	$t_{1/2}$ assoz. (ms)	Delay time (s) (95 %-Komplex)
α_1 PI _{nativ} (irrev.)	0,6	0,003
α_1 PI _{oxid} (revers.)	1330	6,6

Tab. 4 Komplexierung von granulozytärer Elastase durch nativen bzw. oxidierten α_1 -Proteinaseinhibitor (α_1 PI) (nach Beatty, Bieth und Travis, 1980).

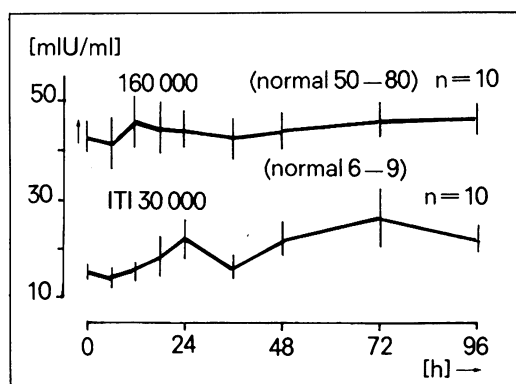


Abb. 4 Serumgehalt von nativem Inter- α -Trypsininhibitor (ITI_{160 000}) und säurestablem Spaltprodukt (ITI_{30 000}) während des hyperdynamen septischen Schocks.

In-vivo-Modell zum Nachweis der therapeutischen Wirksamkeit eines exogenen Proteinaseinhibitors

Der wichtigste indirekte Hinweis dafür, daß der unspezifische proteolytische Abbau durch lysosomale Granulozytenproteinasen einen entscheidenden Einfluß auf die Spiegel bestimmter Plasmaproteine hat, ergab sich aus tierexperimentellen Untersuchungen (Jochum et al., 1981b). In dieser Studie wurde der Elastase-Kathepsin-G-Inhibitor aus Sojabohn-

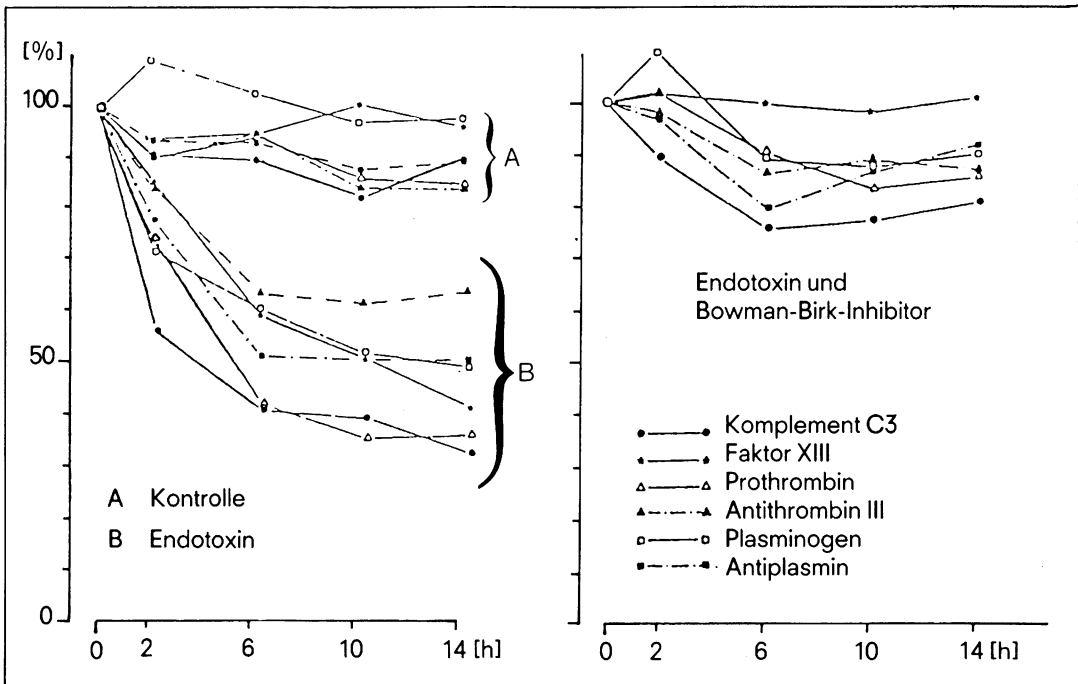


Abb. 5 Plasmagehalt ausgewählter Faktoren während experimenteller Endotoxinämie ohne und mit Inhibitortherapie. Die Kurven repräsentieren Mittelwerte der Kontrollgruppe A (n = 6), der Endotoxinämiegruppe B (n = 6) und der inhibitorbehandelten Endotoxinämiegruppe (n = 4).

nen, der sog. Bowman-Birk-Inhibitor, zur Therapie einer experimentellen Endotoxinämie beim Hund eingesetzt (Abb. 5).

Bei den Kontrolltieren erfolgte eine geringfügige Abnahme der Spiegel der gemessenen Plasmafaktoren, wohl aufgrund des operativen Eingriffs. Signifikant allerdings war der Abfall unter Endotoxingabe. Die dabei zu beobachtenden substantiellen Veränderungen geben das charakteristische Bild einer Endotoxin induzierten disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) wieder. Bei gleichzeitiger Applikation von Endotoxin und Inhibitor (3–8 mg BBI) entsprach der Verbrauch an Plasmafaktoren etwa dem der Kontrolltiere. Besonders bemerkenswert ist das Verhalten des Faktors XIII. Dieses Protein stellt in vitro ein sehr empfindliches Substrat für granulozytäre Elastase dar. Sein Abbau konnte durch

Applikation des Elastaseinhibitors nahezu vollkommen verhindert werden.

Untersuchungen zum Nachweis freigesetzter lysosomaler Enzyme im Plasma

Nach den zahlreichen Ergebnissen über die proteolytische Wirkung der granulozytären Elastase auf biologische Substrate in vitro und den indirekten Hinweisen auf ihre Beteiligung an pathobiochemischen Prozessen in vivo erschien es aus diagnostischer Sicht besonders wichtig, das Ausmaß der Degranulation von Leukozyten im Verlauf von akuten Erkrankungen exakt erfassen zu können.

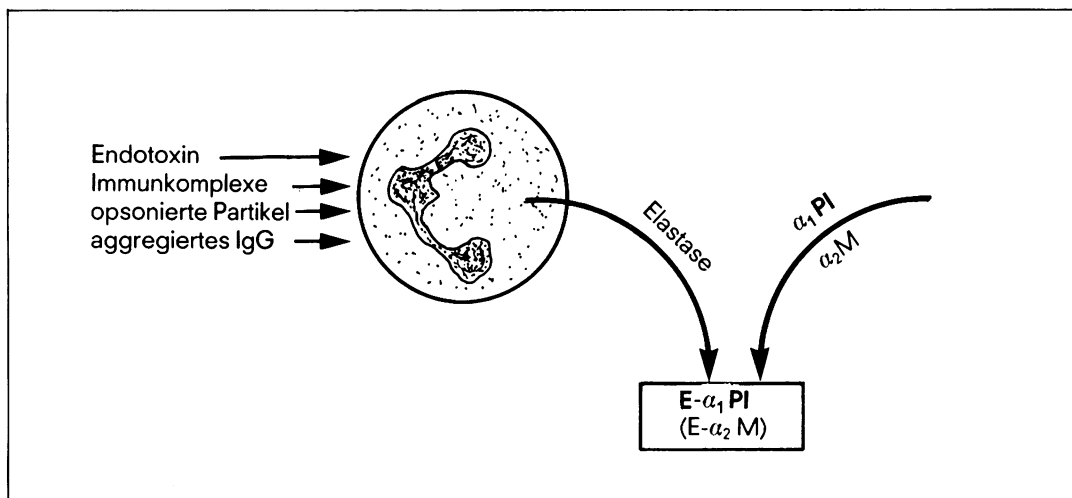


Abb. 6 Freisetzung von Leukozyten-Elastase und Komplexierung mit α_1 -Proteinaseinhibitor (α_1 PI) bzw. α_2 -Makroglobulin (α_2 M) im systemischen Kreislauf.

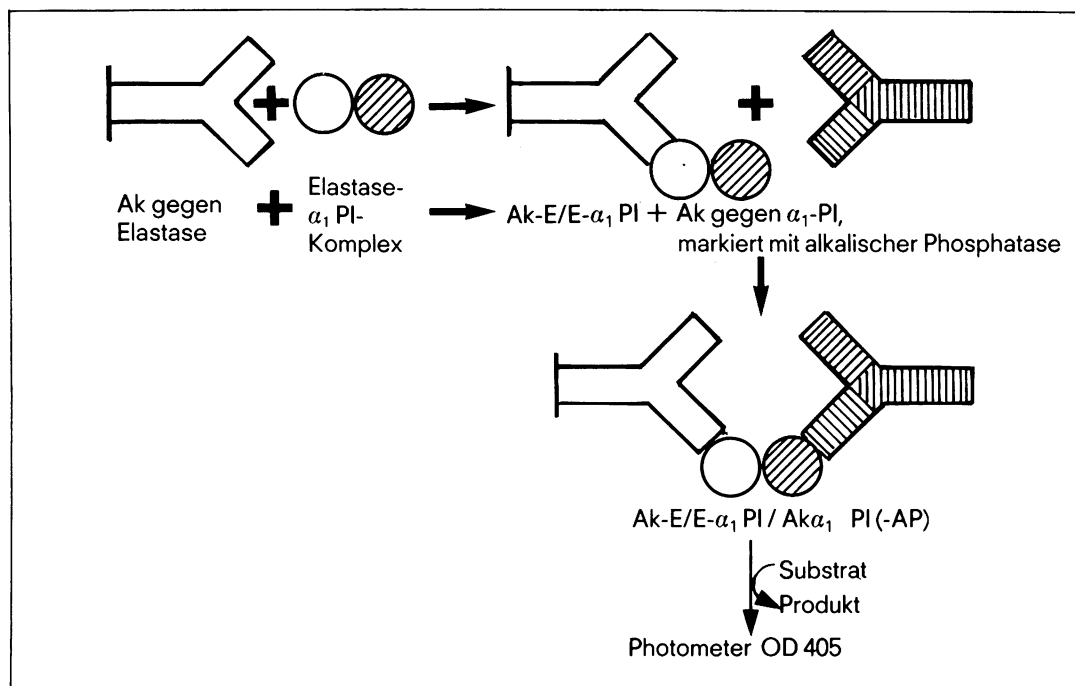


Abb. 7 Prinzip des Enzym-Immunoassays für die Bestimmung des Elastase- α_1 -Proteinaseinhibitor-Komplexes (E- α_1 PI). Der E- α_1 PI-Komplex aus den Plasmaproben wird an Festphasen gebundene Antikörper gegen granulozytäre Elastase (Ak-E) gekoppelt. Nach mehreren Waschschritten wird mit einem Antikörper gegen α_1 PI inkubiert, der seinerseits mit alkalischer Phosphatase (AP) markiert ist (Ak- α_1 PI-AP). Die Aktivität der auf diese Weise an den E- α_1 PI-Komplex gebundenen alkalischen Phosphatase gegen p-Nitrophenylphosphat ist proportional der Konzentration der komplexierten Elastase in der Probe.

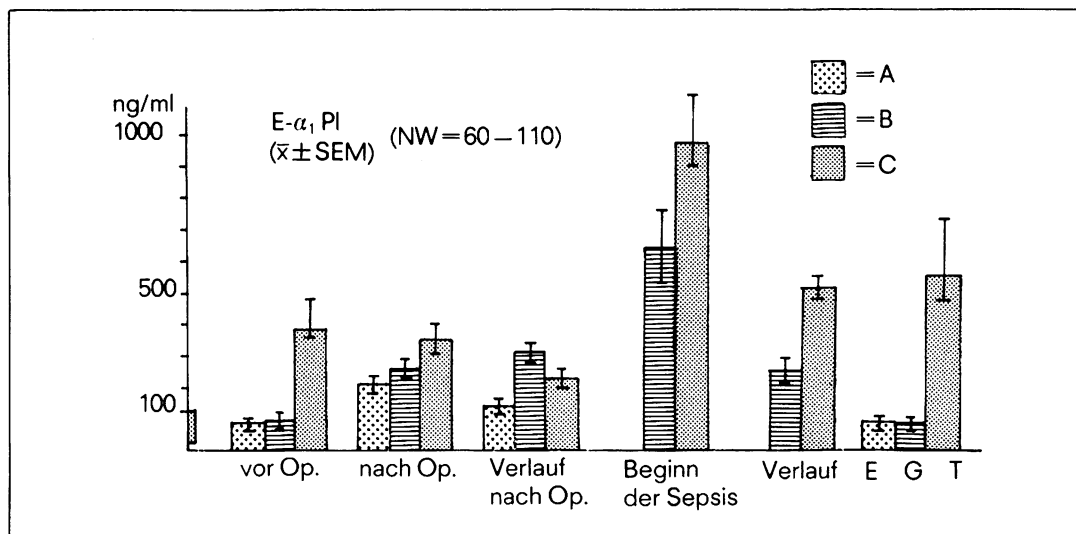


Abb. 8 Plasmagehalt an Elastase- α_1 -Proteinase-Komplex (E- α_1 PI) von Patienten nach abdominalchirurgischen Operationen.

A = Patienten ohne postoperative Infektion (n = 11).

B = Patienten, die die postoperative Infektion überlebten (n = 14).

C = Patienten, die an der postoperativen Infektion verstarben (n = 16).

Die E- α_1 PI-Konzentrationen sind angegeben als Mittelwerte für den Tag vor der Operation, für den Tag nach der Operation, den Zeitraum vor Beginn einer Sepsis und für den Verlauf der Septikämie. Die letzte Bestimmung erfolgte am Tag der Entlassung (E) in der Gruppe A, am Tag der Genesung (G) in Gruppe B und vor Eintritt des Todes (T) in Gruppe C.

Da ins Plasma freigesetzte Leukozytenenzyme bei ausreichendem körpereigenem Inhibitorpotential relativ rasch komplexiert werden (Abb. 6), kann der Nachweis ihrer Freisetzung überwiegend nur über die Konzentrationsbestimmung der Proteinaseinhibitor-Komplexe mittels entsprechender Immunoassays (Enzym-Immunoassay, EIA; Radio-Immunoassay, RIA) erbracht werden. Hierfür stand uns in Zusammenarbeit mit der Abteilung Biochemische Forschung Merck, Darmstadt, ein neuentwickelter EIA für granulozytäre Elastase, gebunden an α_1 -Proteinaseinhibitor (E- α_1 PI), zur Verfügung (Abb. 7; Neumann et al., 1982).

Mit Hilfe dieses Tests konnten wir in einer weiteren klinischen Studie den Nachweis erbringen, daß nach abdominalchirurgischen Eingriffen Leukozytenelastase in erhöhtem Maße in das Plasma

der Patienten freigesetzt wurde und daß die Höhe des Gehalts an E- α_1 PI mit dem Schweregrad einer postoperativ auftretenden Infektion (Sepsis) korrelierte (Abb. 8).

Untersucht wurden 14 Patienten, die eine postoperative Infektion überlebten (Gruppe B), und 16 Patienten, die an den Folgen einer Sepsis verstarben (Gruppe C). Als Kontrolle dienten 11 Patienten ohne Infektionszeichen nach abdominalen Operationen (Gruppe A). Bei Patienten ohne präoperative Infektion (Gruppen A und B) erhöhte sich aufgrund des operativen Traumas der E- α_1 PI-Gehalt auf das 2- bis 3fache des Normalwertes ($86,5 \pm 25,5$ ng/ml). Patienten, die bereits vor der Operation an einer Infektion erkrankt waren (6 von 16 in Gruppe C), hatten schon eindeutig erhöhte präoperative E- α_1 PI-Werte. Unmittelbar nach dem

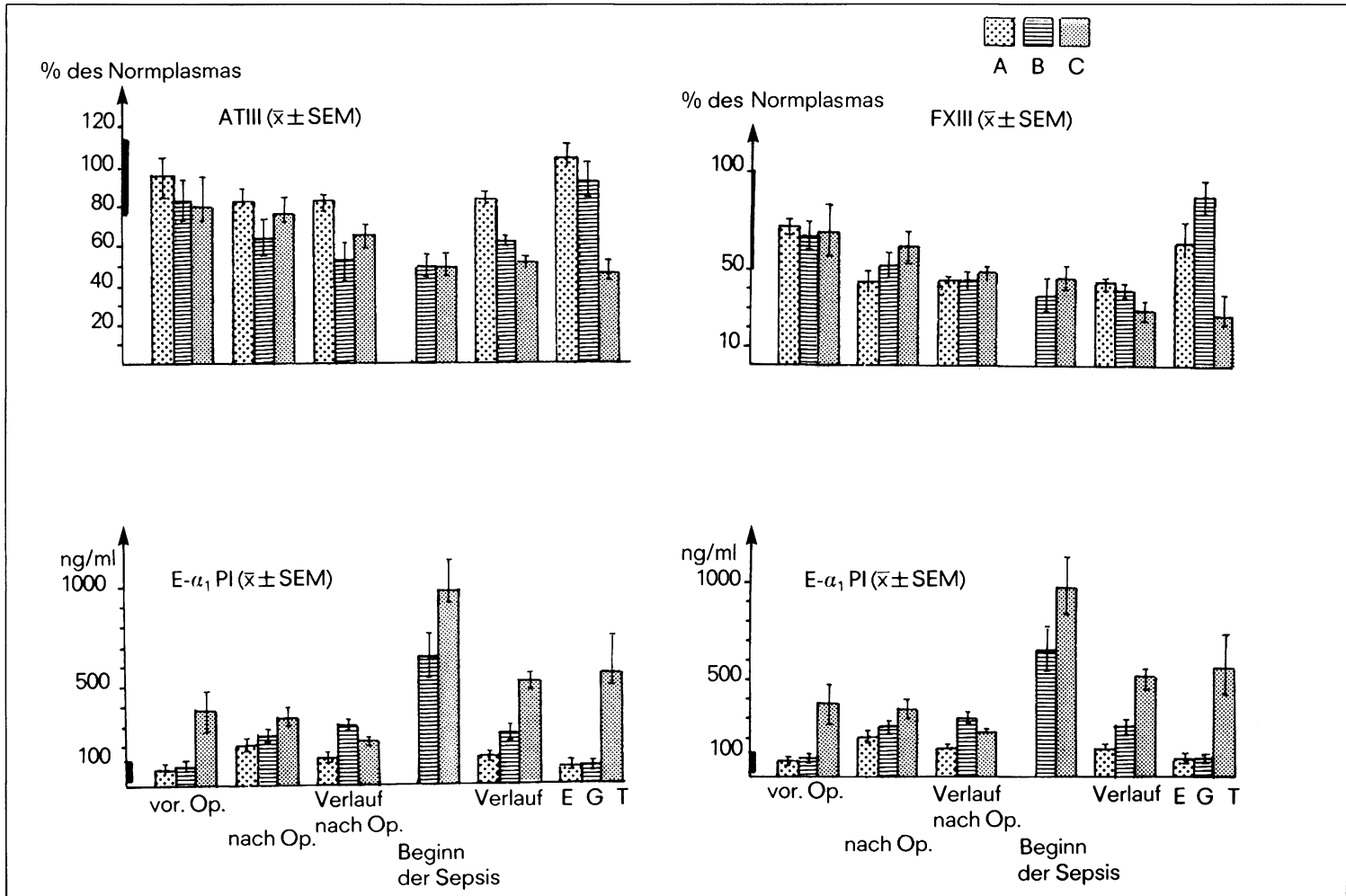
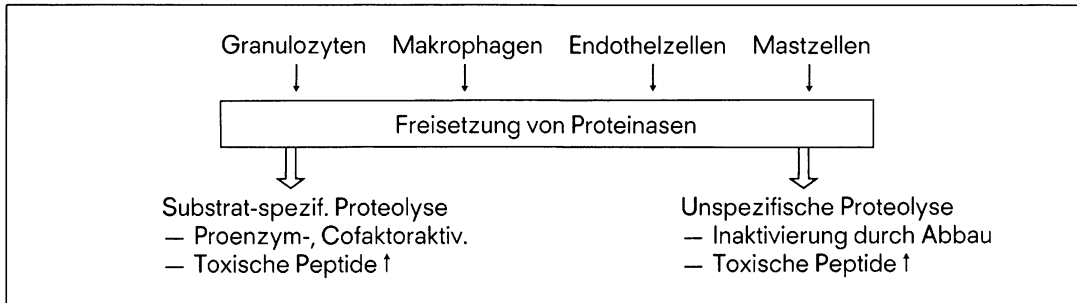


Abb. 9 Vergleich des Gehaltes von Elastase- α_1 -Proteinaseinhibitor-Komplex (E- α_1 PI) mit der inhibitorischen Aktivität von Antithrombin III (AT III) bzw. der Gerinnungsaktivität von Faktor XIII (F XIII) im Plasma von Patienten nach abdominalchirurgischen Eingriffen. Weitere Erläuterungen siehe Abbildung 8.



Tab. 5 Beteiligung verschiedener Körperzellen am Pathomechanismus entzündlicher Prozesse.

chirurgischen Eingriff konnte hier allerdings eine leichte Abnahme beobachtet werden, die wahrscheinlich durch die Elimination des Infektionsherdes verursacht war. Im postoperativen Verlauf blieben die E- α_1 PI-Konzentrationen vor Eintreten einer Sepsis in den beiden Gruppen B und C mäßig erhöht. Zu Beginn einer Sepsis nahm der Gehalt an E- α_1 PI im Mittel jedoch auf das 6fache des Normwertes in Gruppe B und auf mehr als das 10fache in Gruppe C zu. Spitzenwerte von über 2500 ng/ml konnten in beiden Gruppen gemessen werden. Bei Patienten, die die Infektion (Gruppe B) überlebten, kehrten die E- α_1 PI-Konzentrationen zu Normalwerten zurück, während sie bei Patienten der Gruppe C bis zum Tode signifikant erhöht blieben. Die für die Homöostase der Gerinnung lebenswichtigen Faktoren AT III und F XIII — in vitro sehr sensitive Substrate für granulozytäre Elastase — zeigten eine auffällige Verminderung ihrer Aktivität während der Sepsis, die neben dem spezifischen Verbrauch auch eine unspezifische Inaktivierung durch Elastase und andere leukozytäre Proteasen wahrscheinlich macht (Abb. 9). Für eine Beteiligung dieser Proteasen an der Inaktivierung der erwähnten Faktoren spricht

auch die signifikante Verminderung der Hemmaktivität des α_2 M im Plasma parallel zur Erhöhung der komplexierten Elastase.

Die Ergebnisse sowohl der klinischen wie auch der experimentellen Studien haben klar die derzeitige Arbeitshypothese einer „proteinase-proteinase inhibitor imbalance“ bestätigt, womit die ursächliche Beteiligung im Überschuß freigesetzter, vom endogenen Inhibitorpotential nicht mehr regulierbarer Leukozyten-Proteasenaktivitäten am Pathomechanismus verschiedener Erkrankungen gemeint ist. Obwohl den neutralen Proteasen aus den PMN-Granulozyten sicherlich eine sehr große Rolle in der Potenzierung entzündlicher Prozesse zukommt, sollte die Beteiligung weiterer lysosomaler Faktoren (saure Kathepsine, Hydrolasen, Lysozym, Myeloperoxidase etc.) auch aus anderen Zelltypen (Tab. 5) nicht unterschätzt werden (Klebanoff und Clark, 1978). Hier sind vor allem Monozyten und Makrophagen zu nennen, die aufgrund ihrer längeren Lebenszeit und kontinuierlichen Freisetzung gewebeschädigender Produkte eine Persistenz des initialen, granulozytenbedingten Schadens bewirken können (Kitagawa et al., 1980; Cohen, 1979).

Literatur

1. *Banda, M. J., E. J. Clark, Z. Werb*: Limited proteolysis by macrophage elastase inactivates human α_1 -proteinase inhibitor. *J. Exp. Med.* 152 (1980), 1563—1570
2. *Beatty, K., J. Bieth, J. Travis*: Kinetics of association of serine proteinases with native and oxidized α_1 -proteinase inhibitor and α_1 -antichymotrypsin. *J. Biol. Chem.* 255 (1980), 3931—3934
3. *Cohen, A. B.*: Potential adverse effects of lung macrophages and neutrophils. *Federation Proc.* 38 (1979), 2644—2647
4. *Dietl, T., W. Dobrinski, K. Hochstrasser*: Human inter- α -trypsin inhibitor — limited proteolysis by trypsin, plasmin, kallikrein and granulocytic elastase and inhibitor properties of the cleavage products. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 360 (1979), 1313—1318
5. *Egbring, R., W. Schmidt, G. Fuchs, H. Havemann*: Demonstration of granulocytic proteases in plasma of patients with acute leukemia and septicemia with coagulation defects. *Blood* 49 (1977), 219—231
6. *Fritz, H.*: Proteinase inhibitors in severe inflammatory processes (septic shock and experimental endotoxemia): biochemical, pathophysiological and therapeutic aspects. In: *Protein Degradation in Health and Disease*, pp. 351—379. Ciba Foundation Symp. 75 (New Series). Excerpta Med., Amsterdam 1980
7. *Havemann, K., A. Janoff*: Neutral Proteinases of Human Polymorphonuclear Leukocytes. Urban und Schwarzenberg, Baltimore — München 1978
8. *Jochum, M., K.-H. Duswald, E. Hiller, H. Fritz*: Plasma levels of human granulocytic elastase- α_1 -proteinase inhibitor complex (E- α_1 PI) in patients with septicemia and acute leukemia. In: *Selected topics in clinical enzymology*, pp. 85—100. *Goldberg, D. M., M. Werner* (eds.). Walter de Gruyter, Berlin — New York 1983
9. *Jochum, M., S. Lander*: Limited proteolysis of isolated human α_1 -antichymotrypsin and α_1 -plasmin inhibitor by human granulocytic elastase. Manuskript in Vorbereitung
10. *Jochum, M., S. Lander, N. Heimbürger, H. Fritz*: Effect of human granulocytic elastase in isolated human antithrombin III. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 362 (1981a), 103—112
11. *Jochum, M., J. Witte, H. Schiessler, H. K. Selbmann, G. Ruckdeschl, H. Fritz*: Clotting and other plasma factors in experimental endotoxemia: inhibition of degradation by exogenous proteinase inhibitors. *Eur. surg. Res.* 13 (1981b), 152—168
12. *Kitagawa, S., F. Takaku, S. Sakamoto*: Evidence that proteases are involved in superoxide production of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *J. Clin. Invest.* 65 (1980), 74—81
13. *Klebanoff, S. J., R. A. Clark*: *The Neutrophil Function and Clinical Disorders*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam 1978
14. *Kleesiek, K., S. Neumann, H. Greiling*: Determination of elastase- α_1 -proteinase inhibitor complex, elastase activity and proteinase inhibitors in synovial fluid. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 311 (1982), 434—435
15. *Martin, W. J., J. C. Taylor*: Abnormal interaction of α_1 -antitrypsin and leukocyte elastolytic activity in patients with

chronic obstructive pulmonary disease. *American Review of Respiratory Disease* 120 (1979), 411—419

16. *Neumann, S., N. Hennrich, G. Gunzer, H. Lang*: Enzyme-linked immunoassay for human granulocyte elastase α_1 -proteinase inhibitor complex. In: *Progress in Clinical Enzymology, II. Goldberg, D. M., M. Werner* (eds.). 1982 (in press)

17. *Rausch, P. G., K. B. Pryzwansky, J. K. Spitznagel, J. C. Herion*: Immunocytochemical identification of abnormal polymorphonuclear neutrophils in patients with leukemia. *Blood Cells* 4 (1978), 369—376

18. *Witte, J., M. Jochum, R. Scherer, W. Schramm, K. Hochstrasser, H. Fritz*: Disturbances of selected plasma proteins in hyperdynamic septic shock. *Intensive Care Med.* 8 (1982), 215—222

19. *Wong, P. S., J. Travis*: Isolation and properties of oxidized α_1 -proteinase inhibitor from human rheumatoid synovial fluid. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 96 (1980), 1449—1454